

Структурно-функциональные особенности *Galium* × *affrenum* (Klokov) Ostapko (Rubiaceae) в сравнении с родительскими видами

О. А. РОЗЕНЦВЕТ, Е. С. БОГДАНОВА, В. Н. НЕСТЕРОВ, В. М. ВАСЮКОВ

Самарский федеральный исследовательский центр РАН,
Институт экологии Волжского бассейна РАН
445003, Тольятти, ул. Комзина, 10
E-mail: cornales@mail.ru

Статья поступила 05.12.2022

После доработки 19.12.2022

Принята к печати 20.12.2022

АННОТАЦИЯ

Исследованы экологические, морфологические и физиолого-биохимические особенности представителей рода *Galium* (Rubiaceae). Объекты исследования – гибрид (нотовид) *Galium* × *affrenum* (Klokov) Ostapko (=нотовид) и его родительские виды *G. ruthenicum* Willd. и *G. octonarium* (Klokov) Pobed. s. l. *G.* × *affrenum* габитуально ближе к *G. ruthenicum*, отличаясь от последнего бледно-лимонными цветками. С помощью метода искусственных нейронных сетей показано, что по физиолого-биохимическим признакам нотовид ближе расположен к родительскому виду *G. octonarium*. Листовая биомасса *G.* × *affrenum* отличается повышенным содержанием и большей изменчивостью концентрации фотосинтетических пигментов и показателей липидного метаболизма, что может являться залогом его большей устойчивости и жизнестойкости.

Ключевые слова: *Galium* × *affrenum*, *G. ruthenicum*, *G. octonarium*, антиоксиданты, липиды, нотовид, фотосинтетические пигменты.

ВВЕДЕНИЕ

Galium L. – многовидовой род семейства Rubiaceae Juss. – насчитывает более 600 многолетних и однолетних видов [Robbrecht, 1988; Ehrendorfer et al., 2014; Son, Chang, 2019]. Его виды главным образом распространены в умеренных областях Северного полушария, а в тропиках приурочены к горным и высокогорным районам. Центрами видового разнообразия являются Западная Европа, Юго-Западная Азия и Средиземноморье, где произрастает множество эндемичных видов [Son, Chang, 2019]. В систематическом

плане род *Galium* среди сем. Rubiaceae – один из сложных родов, поскольку часто объединяет виды, принадлежащие к различным группам, сходным по своим признакам. В то же время многие его виды являются полиморфными, но часто молодыми и слабо дифференцированными географически [Цвелев, 2005]. С другой стороны, многие древние виды этого рода с разобщенными ареалами представляются чрезвычайно стабильными морфологически и не образующими подвидов [Победимова, 1958]. В роде *Galium* часто наблюдается гибридизация как между близко-

родственными, так и далекими видами [Клоков, 1961; Остапко, 2005, 2020; Abdel-Khalik et al., 2008; Элькорди, Шанцер, 2015]. Например, в Волго-Уральском регионе широко распространены видами являются *Galium octonarium* (Klokov) Pobed. s. l. и *G. ruthenicum* Willd. [Плаксина, 2001]. *G. ruthenicum* предпочитает степи и степные каменистые склоны, в то время как *G. octonarium* населяет каменистые степи, меловые и известняковые обнажения, степные холмы и равнины. Происходящий от их гибридизации нотовид *G. × affrenum* (Klokov) Ostapko произрастает на степных каменистых склонах и меловых обнажениях [Остапко, 2005].

Традиционно в систематике рода *Galium* используют морфологические признаки вегетативных и генеративных органов, такие как число листьев в мутовке, особенности их опушения, число жилок на листьях, тип соцветия, форма, окраска венчика, форма плода и др. При этом значимость признаков для видов рода *Galium* не всегда равнозначна [Балде, 2012; Элькорди, Шанцер, 2015; Пинженина, 2019; Остапко, 2020]. Гибридизация может привести к непредсказуемым изменениям генома и, как следствие, к изменению морфологии, физиологического состояния и адаптационной способности новых видов [Hammer, 1984; Rieseberg, Carney, 1998]. Исследования особенностей структуры и метаболизма гибридов растений (= нотовидов) может быть одним из подходов для уточнения родственных связей видов и оценки жизнестойкости вида.

Наиболее полную информацию об адаптационной способности видов можно получить из анализа их функциональных признаков, особенно параметров листьев. Например, концентрация и состав пигментов характеризуют фотосинтетическую функцию и ее адаптацию к различным условиям окружающей среды [Ivanova et al., 2018]. Многочисленными примерами показано, что содержание и качественный состав пигментов определяются как условиями окружающей среды [Esteban et al., 2015; Иванов и др., 2020], так и видовыми особенностями [Дымова, Головкин, 2019]. Пигменты интегрированы в мембраны хлоропластов и связаны с белками реакционных центров и светособирающих комплексов (ССК) фотосистем. Ремоделирование состава липидов и их жирных кислот (ЖК) обеспечива-

ет динамические и структурные свойства мембран и играет важную роль в приспособлении растений к различным условиям окружающей среды [Kobayashi, 2016; Liu et al., 2019]. По составу и содержанию липидов оценивается степень проницаемости клеточных мембран, уровень окислительно-восстановительного потенциала [Labudda, 2013; Rozentsvet et al., 2017]. Не менее важным показателем функционального состояния растений является про-/антиоксидантный статус. Аэробный характер обмена веществ у растений сопряжен с образованием активных форм кислорода (АФК) [Foyer, Noctor, 2003; Asada, 2006; Lambers, Oliveira, 2019]. В условиях абиотического или биотического стресса образование АФК в клетках растений превышает возможности их нейтрализации и индуцирует процессы окисления, способные нанести значительный ущерб мембранам, ДНК и белкам. Растения снабжены пулом низкомолекулярных вторичных метаболитов [Boulouri-Moghaddam et al., 2010; Bose et al., 2014] и ферментов, которые противодействуют росту внутриклеточной генерации АФК [Demidchik, 2015]. Однако об исследованиях указанных параметров у нотовидов в сравнении с родительскими видами известно мало.

Цель работы состоит в выявлении особенностей структуры и функций листьев нотовида *Galium × affrenum* в сравнении с родительскими видами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Полевые исследования проводились в июне 2020–2022 гг. на территории национальных парков “Хвалынский” (Саратовская обл., гора Беленькая, 52°48'57" с. ш., 48°01'52" в. д.) и “Сенгилеевские горы” (Ульяновская обл., урочище “Шиловская лесостепь” 54°03'17" с. ш., 48°66'39" в. д.), далее биотоп-1 и биотоп-2.

Растения рода *Galium* биотопа-1 – *G. octonarium*, *G. ruthenicum* и происходящий от их гибридизации нотовид *G. × affrenum* – произрастали на меловых обнажениях в дубяно-тимьяновой петрофитной несомкнутой группировке (*Thymus dubjanskii* Klokov et Des.-Shost) с участием *Crambe litwinowii* K. Gross, *Festuca wolgensis* P. A. Smirn. Фитоценотический состав биотопа-2, где произ-

растали исследуемые виды, представлен разнотравно-тырсово-береговокостречевой ассоциацией (*Bromopsis riparia* + *Stipa capillata* + *Herbae stepposae*) корневищных петрофитных степей с участием *Festuca wolgensis* P. A. Smirn., *Polygala sibirica* L.

Морфометрические показатели определяли на 10–15 растениях одного вида. Далее со средней части растений отбирали зрелые листья и после измерения линейных параметров формировали общую биомассу, из которой отбирали три параллельные пробы для каждого вида анализа и хранили в жидком азоте при температуре –196 °С. Часть биомассы свежесобранных листьев использовали для определения оводненности тканей после их высушивания при температуре 60 °С до постоянного веса. Содержание сухого вещества оценивали как отношение сухой и сырой массы и выражали в процентах от сырой массы. Содержание воды рассчитывали в миллиграммах на грамм сухой массы.

Содержание пигментов определяли спектрофотометрически в ацетоновом экстракте (90 %) на УФ-спектрофотометре ПЭ-3000 (Россия) при λ – 662, 645 и 470 нм. Расчет концентрации хлорофиллов (Хл) *a*, *b* и каротиноидов (Кар) проводили в соответствии с рекомендациями [Lichtenthaler, 1987]. Долю хлорофиллов ССК рассчитывали по формуле $[(1,2 \text{ Хл } b + \text{Хл } b) / \Sigma(\text{Хл } a + \text{Хл } b)]$.

Количество водорастворимых (ВБ) и мембранно-связанных белков (МБ) оценивали по методу [Lowry et al., 1951] на спектрофотометре “ПЭ-3000 УФ” (“ПромЭкоЛаб”, Россия) при λ = 750 нм.

Содержание свободного пролина определяли с помощью кислого нингидринового реактива по методу [Bates et al., 1973], результаты рассчитывали на 1 г сухой массы.

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в листьях растений оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) и его реакции с тиобарбитуровой кислотой [Uchiyama, Mihara, 1978].

Липиды экстрагировали смесью хлороформа и метанола (1:2) с одновременным механическим разрушением тканей [Кейтс, 1975]. Разделение липидов осуществляли методом тонкослойной хроматографии. Количество мембранных фосфолипидов, гликолипидов и стеринов (СТ) определяли денситометри-

ческим методом, используя программу Денскан-04 (Россия). Хроматограммы анализировали в режиме параболической аппроксимации по градуировочным зависимостям, используя фосфатидилхолин (ФХ), моногалактозилдиацилглицерин (МГДГ) и кампестерин в качестве стандартов.

Метанолиз жирных кислот (ЖК) осуществляли кипячением в 5%-м растворе HCl в метаноле. Полученные эфиры анализировали на хроматографе “Хроматэк Кристалл 5000.1” (Россия) в изотермическом режиме с использованием капиллярной колонки длиной 105 м и диаметром 0,25 мм RESTEK (США). Температура колонки – 180 °С, испарителя и детектора – 260 °С, скорость тока газа-носителя (гелий) – 2 мл/мин.

Анализ каждого компонента проводили трижды в каждой параллельной пробе. На рисунках и таблицах результаты представлены в виде средних значений параметра и их стандартных ошибок. Сравнение количественных признаков данных проводилось двухфакторным дисперсионным анализом (Two-way ANOVA) с последующим использованием критерия Тьюки для сравнения средних значений. С помощью метода моделирования на основе использования нейронных сетей установлены различия/сходства между видами растений. Расчеты выполняли, используя программы Statistica 10.0 for Windows, Microsoft Excel 2003, Past 3 и Statgraphics Centurion XVI.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфометрические показатели родительских видов *G. octonarium* и *G. ruthenicum*, а также нотовида *G. × affrenum*, собранные в различных географических районах, представлены на рис. 1. В растениях обнаружена широкая вариативность морфологических признаков. Растения нотовида имеют примерно такую же высоту растений (рис. 1, *a*), но отличаются от родительских видов меньшим числом листьев на стебле (рис. 1, *б*) и меньшим числом соцветий (рис. 1, *в*), особенно в сравнении с видом *G. octonarium*, что соответствует литературным данным [Остапко, 2005; Цвелев, 2005]. Линейные размеры листьев нотовида также отличаются от родительских видов. Листья нотовида более

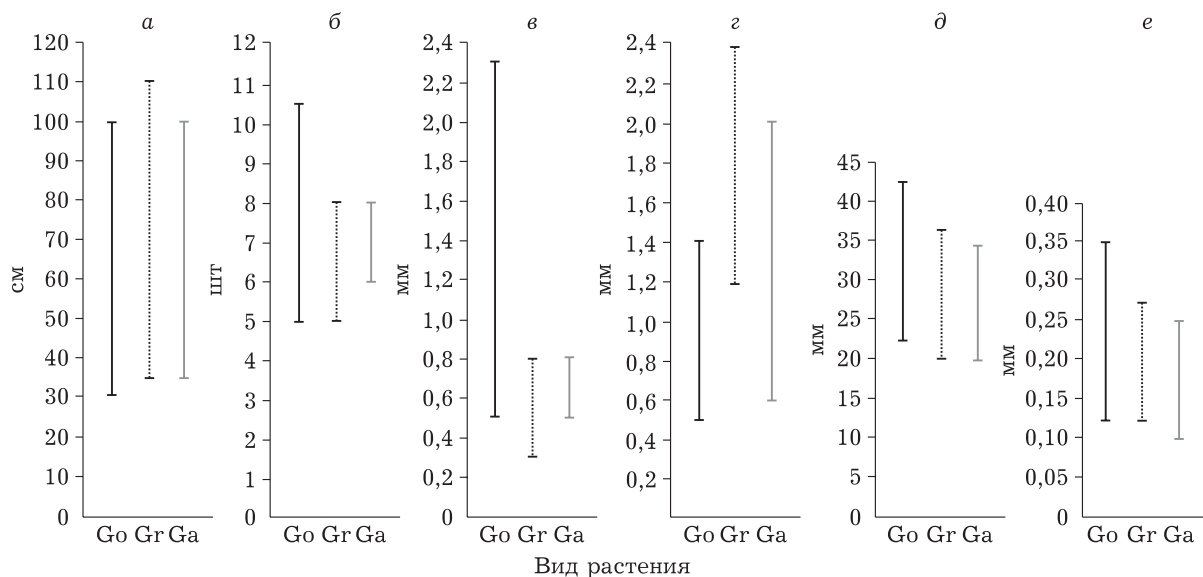


Рис. 1. Вариативность морфометрических показателей листьев родительских видов и нотовида: высота стебля (а), число листьев (б), число соцветий (в), ширина (г), длина (д) и толщина листа (е). Go – *G. octonarium*, Gr – *G. ruthenicum*, Ga – *G. x affrenum*

широкие, но меньше в длине и с меньшей толщиной листовой пластины (рис. 1, д–е).

Листья трех видов биотопа-1 практически не отличались по содержанию сухой биомассы друг от друга, тогда как в листьях биотопа-2 содержание сухого вещества снижалось в ряду *G. octonarium* > *G. ruthenicum* > *G. x affrenum* (рис. 2, а). Содержание воды в листьях варьировало от 5,5 до 21,0 г на 1 г сухой массы растений в зависимости от вида и условий произрастания. Особенно большое количество воды отмечено в листьях нотовида в биотопе-2 (рис. 2, б). Уровень ПОЛ, измеренный по содержанию МДА, у *G. x affrenum* в биотопе-1 был на 10 % ниже, чем у *G. octonarium* и *G. ruthenicum* (рис. 2, в). Растения биотопа-2 *G. ruthenicum* и *G. x affrenum* отличались повышенным уровнем ПОЛ по сравнению с растениями биотопа-1, что свидетельствует о большем уровне процессов окисления. В биотопе-2 данный показатель у нотовида занял промежуточное положение между родительскими видами. Содержание аминокислоты пролина, выполняющего осмопротекторную и антиоксидантные функции, не зависело от условий произрастания исследованных растений. В частности, концентрация пролина в листьях *G. ruthenicum* была вдвое выше по сравнению с нотовидом и вторым родительским видом (рис. 2, г). В то же время кон-

центрация пролина в листьях нотовида соответствовала средним значениям, полученным для родительских видов в двух биотопах.

Существенные различия между растениями разных биотопов выявлены в содержании ВБ и МБ. Так, в листьях растений биотопа-2 количественное содержание белков было в 2–4 раза больше, чем в листьях растений биотопа-1 (рис. 2, д, е). По данным показателям нотовид также занимает промежуточное положение между родительскими видами.

Концентрация хлорофилла, активно участвующего в фотосинтезе, у растений трех видов биотопа-2 была в 1,5–3 раза выше, чем в растениях биотопа-1 (табл. 1). При этом если сумма пигментов у растений биотопа-1 снижалась в ряду *G. octonarium* > *G. ruthenicum* > *G. x affrenum*, то в растениях биотопа-2 наблюдалась противоположная закономерность. Вместе с изменением концентрации пигментов менялось и их соотношение, а также относительное содержание фотосинтетических единиц ССК в общей массе пигментов. По количеству хлорофилла и каротиноидов нотовид биотопа-2 резко отличался от родительских видов. Количество каротиноидов, защищающих фотосинтетический аппарат от избыточной инсоляции, так же как и хлорофилла, было выше у *G. affrenum* в биотопе-2.

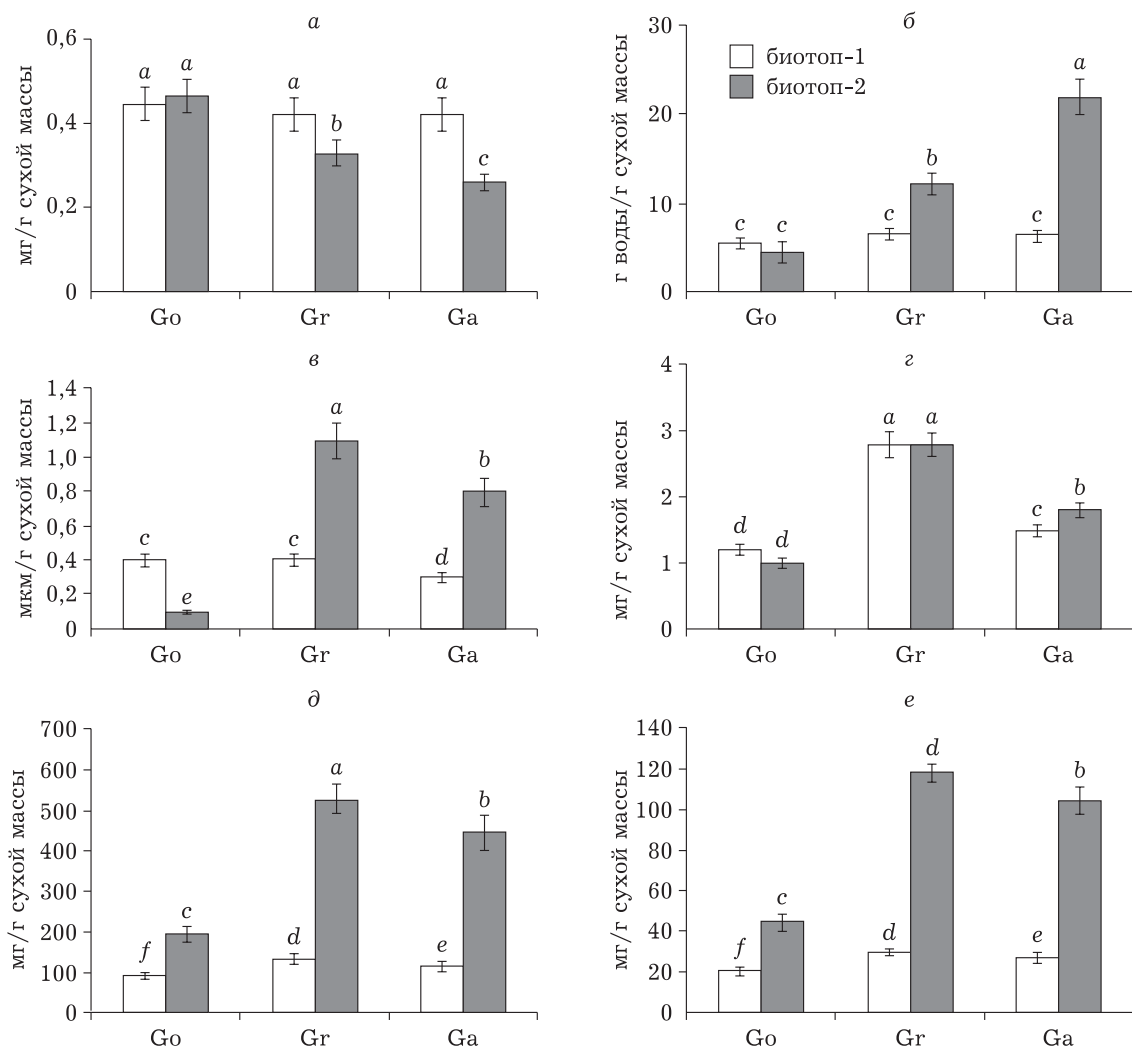


Рис. 2. Содержание сухого вещества (а), воды (б), МДА (в), пролина (г), водорастворимых (д) и мембранно-связанных (е) белков в листьях родительских видов и нотовида. Go – *G. octonarium*, Gr – *G. ruthenicum*, Ga – *G. x affrenum*. Разными буквами обозначены достоверные различия между видами растений разных биотопов при $p < 0,05$

Т а б л и ц а 1
Содержание фотосинтетических пигментов в листьях родительских видов и нотовида, мг/г сухой массы

Параметр	Биотоп-1			Биотоп-2		
	Go	Gr	Ga	Go	Gr	Ga
Хл а	$2,4 \pm 0,2^c$	$2,0 \pm 0,1^{cd}$	$1,8 \pm 0,1^d$	$3,5 \pm 0,2^b$	$3,5 \pm 0,1^b$	$4,9 \pm 0,4^a$
Хл б	$0,8 \pm 0,2^c$	$0,7 \pm 0,2^c$	$0,7 \pm 0,1^c$	$1,2 \pm 0,1^b$	$1,3 \pm 0,2^b$	$1,8 \pm 0,3^a$
Кар	$0,9 \pm 0,2^c$	$0,7 \pm 0,3^c$	$0,7 \pm 0,1^c$	$1,1 \pm 0,1^b$	$1,1 \pm 0,2^{ab}$	$1,4 \pm 0,2^a$
Σ пигментов	$4,1 \pm 0,6^c$	$3,4 \pm 0,6^d$	$3,2 \pm 0,3^d$	$5,8 \pm 0,4^b$	$5,9 \pm 0,5^b$	$8,1 \pm 0,9^a$
Хл а/Хл б	3,0	2,8	2,6	2,9	2,7	2,7
Хл/Кар	3,5	3,8	3,6	4,3	4,3	4,7
ССК	56,9	56,9	58,2	56,5	59,1	59,1

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2 и 3 Go – *G. octonarium*, Gr – *G. ruthenicum*, Ga – *G. x affrenum*. Разными буквами обозначены достоверные различия между видами растений разных биотопов при $p < 0,05$.

В целом, для него характерно увеличенная доля хлорофилла в ССК фотосистем.

Вместе с пигментами такие липидные молекулы, как МГДГ и дигалактозилдиацилглицерины (ДГДГ), сульфохинозилдиацилглицерины (СХДГ), участвуют в фотосинтезе путем формирования структуры тилакоидов [Kobayashi, 2016]. Доля этих липидов составляет более 60 % от общей суммы мембранных липидов и не зависит от условий произрастания (табл. 2).

При этом характер распределения сахаросодержащих липидов у *G. × affrenum* более схож с *G. octonarium*. В частности, у обоих видов примерно равное содержание МГДГ и ДГДГ, в отличие от *G. ruthenicum*, в котором уровень ДГДГ выше, чем МГДГ, в 1,5 раза в обоих биотопах. Фосфолипиды, как правило, составляют матрикс непластидных мембран клетки – плазмалеммы, тонопласта, ЭПР и пр. Обычно в листьях растений основными фосфолипидами являются такие компоненты, как ФХ, фосфатидилэтаноламины (ФЭ), фосфатидилглицерины (ФГ), в меньшем количестве присутствуют фосфатидилинозиты (ФИ), фосфатидная кислота (ФК), дифосфатидилглицерины (ДФГ). В отличие от липидов, локализованных в хлоропластах, состав фосфолипидов оказался более изменчивым у всех видов в зависимости от условий произрастания. Так, содержание ФХ в мембранах листьев *G. ruthenicum* составляло 1,2–1,4 мг/г, у нотовида *G. × affrenum* – 1,2–1,7 мг/г, а у *G. octonarium* – 2,0–2,3 мг/г сухой массы в биотопах-1 и 2 соответственно (см. табл. 2). Наи-

большие различия между видами и биотопами связаны с содержанием ФК. Больше всего этот тип фосфолипидов накапливался в листьях *G. × affrenum* в биотопе-2.

Третьим обязательным компонентом биологических мембран, оказывающих влияние на их структуру, являются СТ. Содержание данного компонента было довольно устойчивым во всех видах и мало связано с условиями произрастания.

В суммарных липидах листьев преобладали ЖК с длиной цепи 16 и 18 атомов углерода (табл. 3). Относительное содержание пальмитиновой (C16:0), олеиновой (C18:1n9), линолевой (C18:2(n-6)) и α -линоленовой (C18:3(n-3)) кислот составляло более 80 % у всех видов растений. Сравнение состава ЖК исследованных видов с данными литературы показывает общую закономерность распределения ненасыщенных ЖК от наибольшего содержания линоленовой кислоты к наименьшему олеиновой кислоты, характерную для высших растений, а также преобладание среди насыщенных ЖК пальмитиновой кислоты [Rozentsvet et al., 2020]. Состав ЖК нотовида *G. × affrenum*, особенно в отношении кислоты 18:3n3 был ближе к родительскому виду *G. octonarium*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно литературным данным все три вида являются многолетними травянистыми растениями. Родительские виды *G. octonarium* и *G. ruthenicum* различаются по цвету – серовато-зеленые и зеленые числу цветоносных

Т а б л и ц а 2
Содержание мембранных липидов в листьях родительских видов и нотовида, мг/г сухой массы

Параметр	Биотоп-1			Биотоп-2		
	Go	Gr	Ga	Go	Gr	Ga
МГДГ	6,4 ± 0,2 ^a	3,8 ± 0,2 ^c	5,1 ± 0,3 ^b	5,9 ± 0,3 ^a	3,6 ± 0,2 ^c	6,3 ± 0,2 ^a
ДГДГ	6,5 ± 0,5 ^a	5,0 ± 0,3 ^c	7,0 ± 0,6 ^a	6,3 ± 0,3 ^{ab}	5,2 ± 0,2 ^c	6,6 ± 0,6 ^a
СХДГ	1,9 ± 0,1 ^b	1,7 ± 0,1 ^b	2,8 ± 0,2 ^a	1,4 ± 0,1 ^c	1,2 ± 0,2 ^c	2,4 ± 0,2 ^a
ФХ	2,0 ± 0,2 ^a	1,2 ± 0,1 ^c	1,2 ± 0,1 ^c	2,3 ± 0,2 ^a	1,4 ± 0,2 ^b	1,7 ± 0,1 ^{ab}
ФЭ	0,4 ± 0,1 ^{ab}	0,1 ± 0,0 ^c	0,3 ± 0,0 ^b	0,5 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,0 ^c	0,3 ± 0,0 ^b
ФГ	1,1 ± 0,2 ^c	0,4 ± 0,0 ^e	0,5 ± 0,0 ^e	1,6 ± 0,1 ^b	0,8 ± 0,1 ^d	2,1 ± 0,1 ^a
ФИ	0,3 ± 0,1 ^{bc}	0,3 ± 0,0 ^c	0,3 ± 0,0 ^c	0,4 ± 0,1 ^b	0,2 ± 0,1 ^c	0,7 ± 0,1 ^a
ФК	0,6 ± 0,1 ^c	1,1 ± 0,1 ^b	0,9 ± 0,1 ^{bc}	0,8 ± 0,1 ^c	1,3 ± 0,1 ^b	5,5 ± 0,2 ^a
СТ	0,9 ± 0,0 ^a	1,0 ± 0,2 ^a	1,0 ± 0,3 ^a	1,1 ± 0,2 ^a	0,7 ± 0,1 ^b	1,2 ± 0,1 ^a

П р и м е ч а н и е. См. табл. 1.

Состав жирных кислот в листьях родительских видов и нотовида, % от суммы ЖК

ЖК	Биотоп-1			Биотоп-2		
	Go	Gr	Ga	Go	Gr	Ga
>16	1,9 ± 0,1 ^b	2,5 ± 0,2 ^a	2,2 ± 0,1 ^{ab}	1,7 ± 0,1 ^b	2,8 ± 0,1 ^a	2,0 ± 0,2 ^b
16:0	19,9 ± 1,0 ^a	21,6 ± 1,1 ^a	21,0 ± 1,0 ^a	18,3 ± 0,5 ^b	22,0 ± 1,7 ^a	19,7 ± 1,1 ^a
16:1n9	2,4 ± 0,3 ^a	1,2 ± 0,1 ^c	1,5 ± 0,1 ^b	2,0 ± 0,1 ^a	2,1 ± 0,1 ^a	2,0 ± 0,1 ^a
16:4	-	1,7 ± 0,2 ^d	3,0 ± 0,2 ^b	3,6 ± 0,3 ^a	2,3 ± 0,1 ^c	2,8 ± 0,2 ^b
18:0	1,3 ± 0,1 ^b	1,6 ± 0,2 ^b	1,4 ± 0,1 ^b	1,8 ± 0,2 ^b	1,8 ± 0,2 ^b	2,6 ± 0,2 ^a
18:1n9c	4,5 ± 0,4 ^a	3,1 ± 0,1 ^b	2,5 ± 0,2 ^c	3,6 ± 0,2 ^b	4,4 ± 0,2 ^a	3,2 ± 0,2 ^b
18:2n26c	14,5 ± 1,0 ^c	18,9 ± 1,5 ^a	16,0 ± 0,8 ^b	11,0 ± 1,2 ^d	19,2 ± 1,1 ^a	13,4 ± 0,5 ^c
18:3n3	48,1 ± 1,8 ^b	44,8 ± 1,5 ^c	48,2 ± 2,1 ^b	51,8 ± 1,3 ^a	40,6 ± 2,0 ^d	48,6 ± 2,2 ^b
<20:0	6,8 ± 0,4 ^a	4,6 ± 0,3 ^b	4,2 ± 0,5 ^b	4,8 ± 0,3 ^b	1,3 ± 0,0 ^c	4,7 ± 0,4 ^b
Другие	0,6	0,0	0,0	3,1	3,5	1,0

П р и м е ч а н и е. См. табл. 1.

стеблей – немногочисленные и довольно многочисленные; формой корневища – толстое, короткое или тонкое, ползучее, короткое; формой листьев – линейно-щетиновидные и щетиновидные соответственно [Остапко, 2005; Цвелев, 2005]. Нотовид *G. × affrenum* имеет серовато-зеленый цвет с немногочисленными цветоносными стеблями, щетиновидные листья и толстое короткое корневище. Габитуально нотовид *G. × affrenum* унаследовал признаки обоих видов. Характерными признаками, различающими три вида, являются цвет соцветий (венчик белый, золотисто-желтый, бледно-лимонный или беловатый) и структура плодиков [Остапко, 2005; Цвелев, 2005; Балде, 2012]. Измерение морфометрических показателей листьев и физиолого-биохимических признаков нотовида, характеризующих водный обмен, фотосинтетическую функцию и окислительно-восстановительной гомеостаз, также имеют черты сходства с одним или двумя родительскими видами. Возможность появления новых морфологических форм растений в результате межвидовой гибридизации известна давно. Как правило, природные гибриды между родительскими видами морфологически и по молекулярным маркерам ядерного генома могут уклоняться то в сторону одного, то в сторону другого предка [Родионов и др., 2019]. Для выявления степени родства *G. × affrenum* по отношению к родительским видам по всем исследованным физиолого-биохимическим параметрам и их комбинациям (всего 40 признаков) были обучены нейронные сети,

которые в 100 % случаев правильно определяли виды *G. octonarium* и *G. ruthenicum* (рис. 3). Нейронная сеть вырабатывает необходимую иерархию признаков, которые могут быть использованы для классификации растений по видам, физиологическому состоянию, изменению морфологических параметров и т. д. при внешних и внутренних факторах [Бондаренко и др., 2019]. Особенностью нейронных сетей для решения задач классификации является то, что данный метод свободен от модельных ограничений и подходит для линейных и сложных нелинейных зависимостей. Процедура обучения состоит в настройке синаптических весов с целью минимизации функции потерь [Нейросетевые технологии..., 2017]. Обучение нейронной сети осуществлялось с применением одной из наиболее распространенных архитектур, поочередно помещающей входной слой (в каждом случае 10 нейронов), скрытые слои (10 нейронов) и два выходных слоя. Входной слой состоял из полученных результатов проведенных анализов для каждого вида растений и отдельных групп измеряемых параметров: (i) – морфологические параметры; (ii) – оводненность листьев, содержание МДА, пролина, белков, фотосинтетических пигментов; (iii) – содержание общих и индивидуальных липидов; (iv) – состав жирных кислот. Выходные слои – родительские виды (см. рис. 3).

Анализ данных с использованием нейронных сетей показал, что по физиолого-биохимическим признакам нотовид ближе к родительскому виду *G. octonarium*, что

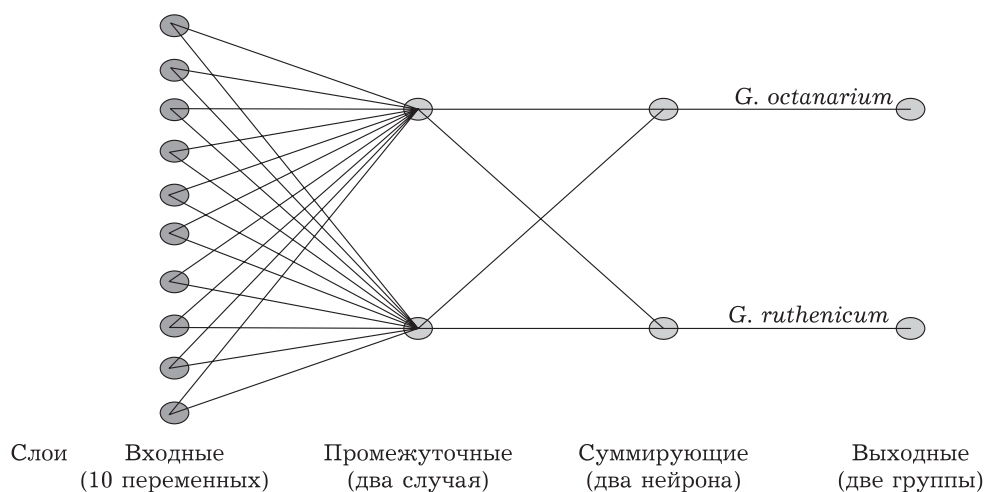


Рис. 3. Архитектура построенной нейронной сети на примере 10 биохимических характеристик (уровень ПОЛ, содержание и соотношение пигментов, содержание общих липидов и липидных групп, водорастворимых и мембранных белков, пролина), по которым обучалась сеть. Слева – результаты измерений, справа – результат классификации *G. affrenum* и *G. octonarium*

могло определить их экологическую близость, а именно предпочтение степным каменистым склонам и меловым обнажения. Как известно, гибридные растения не только сочетают в себе признаки родительских видов, но и приобретают новые качества, особенно отличающие их от всех других видов [Родионов и др., 2019]. Среди измеренных показателей листьев фотосинтетические пигменты и липиды у нотовида *G. × affrenum* отличаются большей изменчивостью, что может являться залогом его большей устойчивости и жизнестойкости. Большие изменения в соотношении форм пигментов означают, что растения имеют лучшие возможности трансформации фотосинтетических единиц, прежде всего ССК, для поддержания на оптимальном уровне фотосинтеза в разных условиях произрастания [Иванов и др., 2020]. Более широкий диапазон изменчивости пигментной системы нотовида может способствовать лучшей адаптации растений к условиям обитания. То же касается и липидных компонентов, особенно содержания ФК. Известно, что ФК является незаменимым фосфолипидом, участвующим в биосинтезе мембран и передаче сигнала во всех эукариотах [Testerink, Munnik, 2011]. Повышенное содержание этого компонента в составе мембран может свидетельствовать о большей скорости липидного обмена и передачи сигналов на стрессовые воздействия, что в свою очередь также

определяет большую адаптационную способность растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный в работе подход к исследованию гибридов растений, основанный на выявлении физиолого-биохимических особенностей листьев и применении моделирования на основе нейронных сетей с привлечением родительских видов, может использоваться для анализа процессов видообразования и прогноза распространения новых видов растений.

Работа выполнена в рамках плана научных исследований “Структура, динамика и устойчивое развитие экосистем Волжского бассейна № 1021060107217-0-1.6.19”.

ЛИТЕРАТУРА

- Балде Е. А. Морфология плодов и скульптура поверхности мерикарпиев видов из секции *Galium* рода *Galium* (Rubiaceae) // Раст. мир Азиат. России. 2012. № 1. С. 39–43.
- Бондаренко В. Ю., Барковский А. В., Шашко А. Ю., Черныш М. А., Пржевальская Д. А., Колбанов Д. В., Соколик А. И., Смолич И. И., Медведев С. С., Демидчик В. В. Анализ фенотипа декоративных растений с использованием искусственных нейронных сетей: определение таксономических и физиологических характеристик // Журн. Белорус. гос. ун-та. Биология. 2019. № 1. С. 25–32.
- Дымова О. В., Головки Т. К. Фотосинтетические пигменты в растениях природной таежной зоны Европейской

- Северо-Востока России // Физиология растений. 2019. Т. 66, № 3. С. 198–206.
- Иванов Л. А., Ронжина Д. А., Юдина П. К., Золотарева Н. В., Калашникова И. В., Иванова Л. А. Сезонная динамика содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях степных и лесных растений на уровне вида и сообщества // Физиология растений. 2020. Т. 67, № 3. С. 278–288.
- Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975. 322 с.
- Клоков М. В. Родина Маренови – Rubiaceae Juss. // Флора УРСР. Т. 10. Київ: АН УРСР, 1961. С. 90–249, 455–474.
- Нейросетевые технологии обработки данных: учеб. пособие / В. А. Головкин, В. В. Краснопрошин. Минск: БГУ, 2017. 263 с.
- Остапко В. М. Этологические, популяционные и ценологические основы фитосоциологии на юго-востоке Украины. Донецк: Лебедь, 2005. 408 с.
- Остапко В. М. Новый вид подмаренника – *Galium × jubilaeare* Ostapko (Rubiaceae) // Промышл. ботаника. 2020. Вып. 20, № 3. С. 4–7.
- Пинженина Е. А. Признаки вегетативных и генеративных органов в систематике рода *Galium* L. (Rubiaceae Juss.) // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2019. Т. 18, № 1. С. 162–165.
- Плакшина Т. И. Конспект флоры Волго-Уральского региона. Самара: Изд-во Самар. ун-та, 2001. 388 с.
- Победимова Е. Г. Род *Galium* L. // Флора СССР. Т. 23. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1958. С. 287–381.
- Родионов А. В., Амосова А. В., Беляков Е. А., Журбенко П. М., Михайлова Ю. В., Пунина Е. О., Шнерер В. С., Лоскутов И. Г., Муравенко О. В. Генетические последствия межвидовой гибридизации, ее роль в видообразовании и фенотипическом разнообразии растений // Генетика. 2019. Т. 55, № 3. С. 255–272.
- Целев Н. Н. О значении гибридизации в эволюции высших растений // Проблемы теоретической морфологии и эволюции высших растений: сб. избр. тр. М.; СПб.: Т-во науч. изд. КМК, 2005. С. 143–150.
- Элькорди А. М., Шанцер И. А. Морфология плодов подмаренников (*Galium*, Rubiaceae) секции *Platygalium* и ее значение для систематики // Turczaninowia. 2015. Т. 18, № 1. С. 82–89.
- Abdel-Khalik K. N., Monier M. A. E.-G., Elkordy A. A. Anatomical findings of the genus *Galium* L. (Rubiaceae) in Egypt and their systematic implications // Turk. J. Bot. 2008. Vol. 32, N 5. P. 353–359.
- Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions // Plant Physiol. 2006. N141. P. 391–396.
- Bates L. S., Waldren R. P., Teare I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. 1973. Vol. 39. P. 205–207.
- Bolouri-Moghaddam M. R., Le Roy K., Xiang L., Rolland F., van den Ende W. Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells // FEBS J. 2010. Vol. 277. P. 2022–2037.
- Bose J., Rodrigo-Moreno A., Shabala S. ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance // J. Exp. Bot. 2014. Vol. 65. P. 1241–1257.
- Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology // Environ. Exp. Bot. 2015. Vol. 109. P. 212–228.
- Ehrendorfer F., Vladimirov V., Barfuss M. H. J. Paraphyly and polyphyly in the worldwide tribe Rubieae (Rubiaceae): Challenges for genetic delimitation // Ann. Missouri Bot. Gar. 2014. Vol. 100. P. 79–88.
- Esteban R., Barrutia O., Artetxe U., Fernandez-Marin B., Hernandez A., Garcia-Plazaola J. I. Internal and external factors affecting photosynthetic pigment composition in plants: a meta-analytical approach // New Phytologist. 2015. Vol. 206, N 1. P. 268–280.
- Foyer C. H., Noctor G. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria // Physiol. Plant. 2003. Vol. 119, N 3. P. 355–364.
- Hammer K. Das domestikationssyndrom. Kulturpflanze. 1984. T. 32, Bd 1. S. 11–34.
- Ivanova L. A., Yudina P. K., Ronzhina D. A., Ivanov L. A., Hölzel N. Quantitative mesophyll parameters rather than whole-leaf traits predict response of *C₃* steppe plants to aridity // New Phytologist. 2018. Vol. 217, N 2. P. 558–570.
- Kobayashi K. Role of membrane glycerolipids in photosynthesis, thylakoid biogenesis and chloroplast development // J. Plant Res. 2016. Vol. 129. P. 565–580.
- Labudda M. Lipid peroxidation as a biochemical marker for oxidative stress during drought. An effective tool for plant breeding. Poland, 2013. P. 1–12. <http://www.e-wydawnictwo.eu/Document/DocumentPreview/3342>
- Lambers H., Oliveira R. S. Plant physiological ecology. Springer Nature, Switzerland AG. 2019. 755 p.
- Lichtenthaler H. K. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in Enzymol. 1987. Vol. 48. P. 331–382.
- Liu X., Ma D., Zhang Z., Wang S., Du S., Deng X., Yin L. Plant lipid remodeling in response to abiotic stresses // Environ. Exp. Bot. 2019. Vol. 165. P. 174–184.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193, N 1. P. 265–275.
- Rieseberg L. H., Carney S. E. Plant hybridization // New Phytologist. 1998. Vol. 140, N 4. P. 599–624.
- Robbrecht E. Tropical woody Rubiaceae. Characteristic features and progressions. Contribution to a new subfamilial classification // Opera Bot. Belg. 1988. Vol. 1. P. 1–272.
- Rozentsvet O., Kosobryukhov A., Zakhozhiy I., Tabalenkova G., Nesterov V., Bogdanova E. Photosynthetic parameters and redox homeostasis of *Artemisia santonica* L. under conditions of Elton region // Plant Physiol. Biochem. 2017. Vol. 118. P. 385e393.
- Rozentsvet O. A., Nesterov V. N., Bogdanova E. S. Lipids of halophyte species growing in lake elton region (South East of the European part of Russia) // Handbook of halophytes, from molecules to ecosystems towards biosaline agriculture / Ed. M. N. Grigore. 2020. P. 1–25.
- Son D. C., Chang K. S. Effective typification of *Galium verum* var. *hallaensis*, a replacement name for the Korean *G. pusillum* (Rubiaceae) // Phytotaxa. 2019. Vol. 423 (5). P. 289–292.
- Testerink C., Munnik T. Molecular, cellular, and physiological responses to phosphatidic acid formation in plants // J. Exp. Bot. 2011. Vol. 62, N7. P. 2349–2361.
- Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // Analyt. Biochem. 1978. Vol. 86. P. 271–278.

Structural and functional features of *Galium* × *affrenum* (Klokov) Ostapko (Rubiaceae) in comparison with parent species

O. A. ROZENTSVET, E. S. BOGDANOVA, V. N. NESTEROV, V. M. VASYUKOV

*Samara Federal Research Scientific Center RAS,
Institute of Ecology of Volga River Basin RAS
445003, Toliatti, Komzina str., 10
E-mail: cornales@mail.ru*

The ecological, morphological, physiological and biochemical characteristics of representatives of the genus *Galium* (Rubiaceae) have been studied. The objects of study are the hybrid (notovid) *Galium* × *affrenum* (Klokov) Ostapko (=notovid) and its parent species *G. ruthenicum* Willd. and *G. octonarium* (Klokov) Pobed. s. l. *G.* × *affrenum* habitually is closer to *G. ruthenicum*, but he differs in the color of the flower. Using the method of artificial neural networks, it was shown that, according to the physiological and biochemical characteristics, the notovid is closer to the parent species *G. octonarium*. The leaf biomass of *G.* × *affrenum* is characterized by an increased content and greater variability in the concentration of photosynthetic pigments and lipid metabolism, which may be the key to its greater stability and viability.

Key words: *Galium* × *affrenum*, *G. ruthenicum*, *G. octonarium*, antioxidants, lipids, notovid, photosynthetic pigments.